

氏 名	PHAM HOANG SON HUNG		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第	6 5 1 7	号
学位授与の日付	2 0 2 1 年 9 月 2 4 日		
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	Study on the intestinal conditions of chicken orally administrated with <i>Lactobacillus acidophilus</i> strain L-55 under the parasite infection or virus vaccination (寄生虫感染あるいはウイルスワクチン投与条件下における <i>Lactobacillus acidophilus</i> L-55 株摂取ニワトリの腸管の状態に関する研究)		
論文審査委員	教授 森田 英利	教授 齋藤 昇	准教授 辻 岳人 准教授 畑生 俊光
学位論文内容の要旨			
<p>The probiotic supplement helps to improve the gut flora, reduce inflammation, prevent diarrhea and boost the immune system. Nevertheless, the molecular basis of their activities, particularly related to their benefits in disease control has not been well studied. Therefore, we have examined the beneficial effects of <i>Lactobacillus acidophilus</i> L-55 (LaL- 55) focused on the intestinal barrier and immune condition under <i>Eimeria tenella</i> infection and Newcastle disease virus (NDV) vaccines models.</p> <p>The first experiment was conducted to investigate the relationship between <i>E. tenella</i> associated-clinical signs and molecular changes in the intestinal barrier. During the infection, the gene expressions of junctional molecules such as Claudin-3, Occludin, Zonula occludens-1, and E-cadherin were downregulated, but the gene expression of Claudin-2 was increased in context with the clinical signs. These results may suggest that both diarrhea and bloody feces in <i>E. tenella</i> infection are related to the disruption of intestinal epithelial barrier molecules, but not a detachment of the epithelial layer.</p> <p>The second experiment examined the effects of LaL-55 probiotic administration at the intestine under the <i>E. tenella</i> infection model, focusing on the clinical signs and expressions of intestinal junctional genes. Our results suggested that LaL-55 mitigated the clinical signs and reduced the oocyst shedding. Furthermore, Claudin-3, Occludin and E-cadherin have tendency to recover their expression level but did not show a statistically significant recovery in intestinal barrier disruption associated with <i>E. tenella</i> infection.</p> <p>The third experiment investigated the augmentation of chick immune responses by LaL-55 administration under the NDV vaccine model. In the spleen, interferon (IFN)-<math>\alpha</math> was significantly higher in the low and middle doses of the LaL-55 group at 6 weeks than at 4 weeks. IFN regulatory factors (IFR)-3 and IRF-7 expression was significantly higher in the low-dose group than in the middle- and high-dose groups of LaL-55. In the ileum, melanoma differentiation-associated protein 5 increased in a dose-dependent manner at 4 weeks. IFN-<math>\gamma</math> and IRF-7 increased in a dose-dependent manner at 6 weeks. These results suggested that LaL-55 enhances the immune response against the NDV vaccine, albeit different mechanisms occurred between the spleen and ileum. In conclusion, the results of this study have indicated that oral administration of LaL-55 mitigates the clinical signs and reduces the oocyst shedding by <i>E. tenella</i> infection and enhances the immune response against viral infection. These results indicated that LaL-55 could provide useful information for further research about probiotic uses for disease prevention and control in chickens.</p>			

## 論文審査結果の要旨

鶏コクシジウム症は、養鶏業にとって経済的ロスの非常に大きい寄生虫感染症である。本感染症は、薬剤耐性原虫の出現などから、新しくかつ安全な対策が必要とされている。新しい対策を講じるためには、本感染症に罹患したニワトリ体内での病態形成機構を知ることが重要である。特に本原虫感染症は下痢と血便を主症状とすることから、腸管の環境を把握することが重要となる。本学位論文では、①急性コクシジウム症の原因原虫である *Eimeria tenella* 感染時のニワトリ盲腸および小腸における腸管バリア機能を把握し、②腸管環境を整える効果の期待できる乳酸菌、*Lactobacillus acidophilus* L-55株 (LaL-55) の投与が*E. tenella*感染ニワトリ腸管環境へ与える効果の検証、③ニワトリ腸管を感染の入り口とするウイルス感染をモデルとして、LaL-55投与が腸管の免疫環境に与える効果について検証した。研究の結果、*E. tenella*感染における血便は、感染初期からの腸管バリア形成に関わる分子群（クローディン (CLDN) -3やオクルディン (OCDN) 等）の発現低下が密に関係すること、一方で下痢はCLDN2が発現亢進することが原因と考えられた。そこで、腸管機能を整える作用が期待される乳酸菌LaL-55を投与が、*E. tenella*感染による下痢や血便の解消および腸管バリア機能維持に関係する分子群の発現へどのように影響するのか検証した。その結果、*E. tenella*感染による下痢や血便の期間短縮効果が認められた。*E. tenella*感染により低下していた腸管バリア機能関連分子群の発現は、一部を除き原虫非感染対照群の発現レベルまで回復した。これらの結果から、*E. tenella*感染による症状の緩和にLaL-55の投与が有用であると考えられた。そこで、腸管バリア機能維持およびこれらに関わる免疫環境に対するLaL-55の機能的効果を検討するために、LaL-55投与ニワトリに対してニューカッスル病生ワクチンを投与し、その際の免疫応答について検討した。その結果LaL-55投与ニワトリでは、LaL-55投与量依存的にIFNの発現増強が認められたことから、LaL-55は将来的な鶏コクシジウム症に対するプロバイオティクスとして有用であると結論付けた。本学位論文は、*E. tenella*感染による腸管バリアの破綻が下痢や血便の原因であること、LaL-55の投与がこれら症状の緩和に有用であり、その効果が腸管バリア機能の回復にあることを新しく見出し、そのような免疫環境を誘導する乳酸菌としてLaL-55は有用であることを証明した。論文提出者は、本研究論文について十分理解し、発表会における質疑応答も十分なものであると考えられた。よって本論文は最終試験に合格するに値すると結論付けた。